

植物发育研究进展及前景

王伟

(厦门大学生物学系博士后流动站 厦门 361005)

摘要 在植物一生中,分生组织不断产生根、茎、叶和花等器官。植物的发育,是基因型与环境因子相互作用的结果。最近,已鉴定出几种参与植物器官发育的基因。利用基因工程,调节植物激素的表达,可有效地控制植物器官的发育。不久,人们可以控制、改良植物发育的任何方面,赋予其理想的性状。

关键词 植物发育,分生组织,转基因,激素。

人类文明的许多重大转折与栽培植物生产力的提高,是密不可分的。长期的定向选择和培育,可使植物某种器官或组织的发育类型明显改变,产生更多(大)的人们愿望收获的部分。显然,这类实践注重的是影响器官发育的特性。例如,在 5000 多年前,人们种植的野生玉米,籽粒带壳,果穗很小,但经过长期的驯化,逐步改良成分枝少,果穗硕大,营养丰富的高产作物^[1]。在不长的时间里,玉米从原产地美洲传遍世界各地。植物发育的生物学最近的发展,尤其是阐明几种控制器官发育的基因,为植物改良提供了前所未有的机遇和手段。本文就此简要综述,以飨读者。

一、植物发育

植物发育^[2],包括细胞分裂、扩大导致的体积增加,以及细胞、组织的分化和成熟。细胞分裂主要局限于胚胎和生长植物的分生组织。分生组织有几种不同的类型,它们各自形成独特的组织和器官。仅就发育而言,植物与动物的区别^[2,3]在于:(1)植物的胚胎发育实际上包括了根、茎分生组织形成。幼苗发育成外观不同的成熟植株,正是由于分生组织活动的结果。在动物中,发育在胚胎中进行,刚出生的幼小动物与其成年个体在外观上很相象。(2)植物细胞的外面包有一层相当坚硬的细胞壁,在植物发育过程中,细胞不能迁移;相比之下,动物的组织、器官发育时,细胞迁移相当普遍。另外,(3)成熟植物的某些细胞仍具有全能性,即产生所有细胞类型的潜在能力。在适宜的条件下,这些细胞形成的相对无差别的细胞团——愈伤组织,可用来诱导植株再生。这种操纵植物细胞的能力,显然有很高的研究和商业价值^[4]。在植物一生中,顶端分生组织以一种可预测的、重复的方式产生不同类型的细胞,形成所谓‘组件’(module)^[2]。茎组件由节、节上的叶片、侧芽以及节间组成。在叶片和节间中,细胞不断扩大,直到成熟大小,而侧芽分生组织通常不活动,除非被某种信号解除休眠。在成熟植物中,还有胚胎中不存在的分生组织,如产生花的生殖分生组织,使根、茎次生加厚(尤其树木)的形成层。生殖分生组织由顶端分生组织转变而来,这种转变涉及同一性、功能的变化,是对环境信号如日长、温度,以及内部指示(如节数,激素)反应的结果。顶端分生组织产生的细胞,命运迥异,这主要取决于细胞在植物体内的位置,而不是其谱系。

在器官形成过程中,细胞的分化通常伴有基因表达的明显改变,每种组织中都涉及一些特殊基因的表达。其中,调节基因起着举足轻重的作用,它们以一种严格的分级次序控制着器官的发育,基因突变将改变分生组织的同一性或器官的形态^[5,6]。于是,调节基因的作用次序可根据遗传研究来推测。近来,已鉴定了许多控制植物发育的基因,它们编码蛋白的氨基酸序列与哺乳动物的转录因子(如 MADS 盒),表现高度的同源性。这些蛋白通过与启动子上特殊的 DNA 顺序结合,增加或降低目标基因的转录速率,从而调节动物的发育。人们推测,控制植物器官发育的基因产物,也可能是一种转录调节蛋白^[7]。

许多分子可作为标记,区别器官中不同类型的细胞。在质膜和胞外基质中,发现存在一种蛋白聚糖——阿拉伯半乳糖蛋白(AGPs),其中的蛋白骨架不到 10%,90% 以上则为碳水化合物^[3]。令人感兴趣的是,AGPs 的结构和参与动物细胞识别的粘蛋白^[8]非常相似,AGPs 在植物中或许起类似的作用。有些实验说明了这一点:加入外源 AGPs 足以诱导未分化的胡萝卜细胞形成胚胎^[10];另外,随着某些细胞类群从分生组织

产生,在细胞表面出现特殊的抗原决定位,它们可被 AGPs 的碳水化合物部分专一性的单克隆抗体免疫检测^[11,12]。

二、植物发育受环境和植物激素的调节

环境因子如光,温度,干旱等强烈影响植物发育,光的影响尤甚^[13]。根和茎都对光信号反应,根表现为背离光源生长,而茎则向光生长。光也通过所谓‘光形态建成过程’影响植物的发育,控制种子萌发、叶片发育和花器官的分化等过程。光形态建成是几种光受体协同作用的结果,它们分别接受特殊波长的光,如光敏色素专门感受红光和远红光。光受体信号传导链诱导一系列的基因表达^[14]。然而,这些分子事件,以及与随后的器官发育间的联系,尚未完全阐明。不久前的一项重大突破是,阐明了参与光敏色素信号传导的几种分子^[15,16],并发现植物的光信号传导链与视网膜中视紫红质的信号传导链^[17]有许多相似之处。在动物细胞信号传导中起作用的 G 蛋白、钙调素(CaM)和 cGMP,也介导光敏色素信号传导过程。于是,长期以来被视为植物发育领域的‘黑匣子’——光敏色素信号链,已初露端倪。环境因子对诱导开花也很重要。日长、温度的变化可被植物敏锐地感受,甚至需要一段时期的低温(春化),作为花器官发育的信号^[18]。

在植物发育过程中,激素起着独特的作用。它们是一组结构、效应各异的小分子化合物,外施或在转基因植物中过量产生时,对植物生长发育有着深刻的影响^[19]。激素主要通过控制细胞分裂、扩大、行使对植物发育的影响。生长素是最早发现促进生长的植物激素,主要在茎尖分生组织中合成,但它却抑制侧生叶芽的发育^[20]。另一类激素细胞分裂素,在根中合成,它与生长素相拮抗,可解除侧芽的休眠。生长素/细胞分裂素比例控制着侧芽的活动,通过基因工程操纵该比例,可以控制转基因植物分枝的程度,以至整个冠形。

三、研究植物发育的新途径

研究植物发育的经典方法,主要是在不同的生长阶段对组织、器官进行显微观察^[2,3]。这种研究无疑很适合植物,因为新器官在可预测的部位不断产生。人为干扰器官发育的实验,如抑制剂处理,外科手术除去分生组织内或附近的细胞,诱导突变等,也有独到之处。

突变体的操作局限性小,可用于鉴定控制器官发育的基因,因此,在植物发育生物学中倍受重视。通常,可用基因插入等分子生物学技术诱导突变体产生^[21]。插入的基因片段,或是一可移动的遗传因子(如转座子),或是一段细菌 DNA(T-DNA),经载体介导整合进植物基因组^[4]。借助转座子或 T-DNA 标记基因,大大简化了随后的基因分离工作。用于突变研究的植物,通常为自交、大量结籽的种类,便于从后代群体中筛选各种突变体。十字花科的野生植物拟南芥菜,核基因组小(约 100 Mb),重复序列少(约占核 DNA 的 20%),生活周期短,个体小,种子多,单倍体只有 5 条染色体,因此广泛地用于遗传分析及发育研究^[21,22]。

花器官发育涉及茎尖分生细胞的决定和分化,花器官的形态建成及发育格局的调节等复杂过程,因而历来被看作发育研究的尖端问题^[23]。研究拟南芥菜花器官发育时发现,在花原基的不同部位,有特殊的同源异形基因(MADS 盒)表达,从而引起花萼、花冠、雄蕊和雌蕊等花器官形成^[24]。近来的研究集中于 CAULIFLOWER(CAL)基因,它控制着花发育的早期步骤。APETALA1(AP1)是参与花发育的另一种基因。似乎,CAL 和 AP1 协同作用,控制着与成花有关的下游基因按照严格的次序表达^[25]。若 CAL 和 AP1 突变后,顶端分生组织则不能形成生殖分生组织^[26,27]。例如,拟南芥菜、花椰菜的 ap_1/cal 突变体,产生一种特殊的生殖分生组织,它不是形成花,而是连续分枝,形成一种致密的顶端分生组织簇。这种致密‘簇’,容易让人联想起栽培花椰菜(cauliflower)的食用部分,CAL 基因即因此得名。拟南芥菜和花椰菜突变体的上述表型,可能有相同的遗传基础。在其它植物中,修饰 CAL 和 AP1 是否也会引起相似的突变表型呢?这一颇具吸引力的设想,还待实验。

与花器官发育相联系,育性的调控也格外引人注目。许多作物的雄性不育主要由花粉败育引起的。通过修饰线粒体 DNA、自交不亲和因子^[28,29],或培育核不育的转基因植物^[30],有可能在更多的作物上利用杂种优势。对我国特有的光敏核不育水稻的研究表明,雄性不育与花药绒毡层细胞发育受阻有关^[31]。把绒毡层发育过程中专一性表达基因的 5'端与 RNA 酶组成嵌合基因,然后导入烟草。由于绒毡层细胞发育需要的 mRNA 被分解,结果发育受阻,花粉败育^[23]。这些研究不仅有助于阐明雄性不育的机理,而且,在育种方面具有潜在的应用价值。

四、控制植物发育的前景

在未来一段时间里,绝大多数作物和蔬菜的育种,仍然要基于数量遗传变异和随机、自发的遗传事件。但基因工程改良植物的巨大潜力,正日益显示出来。现在,这类研究主要集中于7种植物:油菜,马铃薯,烟草,番茄,玉米,亚麻和大豆。例如,通过导入植物病毒外壳蛋白、毒蛋白的编码基因,国内外已成功地获得的抗病、抗虫的转基因植物^[32]。转基因植物花或果实的成熟、衰老,可被导入的外源基因大大推迟,从而大大延长切花的瓶插期,避免果实变质所造成的损失。当然,只有把科学上的可能性与生产、市场需求相结合,才能获益最大。目前,推向市场的第一种转基因植物是 FLAVR SAVRTM番茄,其中,对果实软化起重要作用的多聚半乳糖醛酸酶的合成被反义 RNA 技术显著降低^[33]。这意味着,果实可在植株上成熟,而且耐运输,存架期长。瓶插期较长的麝香石竹,也将面世。在该品种中,乙烯(成熟激素)合成途径中的关键酶——氨基环丙烷羧酸合成酶的合成受抑制,从而阻止乙烯的产生^[34]。也可以控制其它植物激素如生长素、细胞分裂素的合成,产生矮生、半矮生,高产的作物、蔬菜品种。在苹果中曾发现,分枝性状由单基因控制,当它突变时,果树不产生分枝^[35]。尽管,这对苹果生产无多大价值,但对林业却是一项值得重视的结果。不久,人们几乎可以控制、改变植物发育的任何方面,应用基因工程培育出一系列新奇高产的园艺、农业植物,这对于解决人类日益短缺的粮食危机具有长远的意义。在下一世纪,农业生产将发生一场广泛、深刻革命,势必又一次带动人类文明的巨大飞跃!

参 考 文 献

- 1 Doebley J. *Trens. Genet.* 1992, 8:302
- 2 Steeves T A, Sussex I M. *Patterns in Plant Development*(2nd edn). Cambridge: Cambridge University Press, 1989.
- 3 Fosket D E. *Plant Growth and Development, A Molecular Approach.* London: Academic Press, 1994.
- 4 Walden R, Wingender R. *Trens. Biotechnol.* 1995, 13:324
- 5 Jurgens G et al. *Annu. Rev. Genet.* , 1994, 28:351.
- 6 Goldberg R B et al. *Science*, 1994, 266:605
- 7 Yanofsky M F et al. *Nature*, 1990, 346:35.
- 8 Fincher G B et al. *Annu. Rev. Plant Physiol.* , 1983, 34:47.
- 9 Rosen S B *Histochemistry*, 1993, 100:183.
- 10 Kreuger M, von Holst G J. *Planta*, 1993, 189:243.
- 11 Knox J P et al. *Development*, 1989, 106:47.
- 12 Knox J P et al. *Plant J*, 1991, 1:317.
- 13 Bartels D, Nelson D. *Plant Cell Environ.* , 1994, 17:659.
- 14 Quail P H. *Curr. Biol.* , 1994, 4:652.
- 15 Neuhaus G et al. *Cell*, 1993, 73:937.
- 16 Bowler C et al. *Cell*, 1994, 77:73.
- 17 Hargrave P A, McDowell J H. *FASEB J.* , 1992, 6:2223.
- 18 Halevy A H. *CRC Handbook of Flowering*(vol. 1-6). Boca Raton: CRC Press, 1985.
- 19 Klee H J, Romano C P. *Crit. Rev. Plant Sci.* , 1994, 13:311.
- 20 Millner P A. *Curr. Biol.* , 1995, 7:224.
- 21 Koncz C et al. *Methods in Arabidopsis Research*, World Scientific, 1992.
- 22 Bowman J et al. *Arabidopsis, an Atlas of Morphology and Development.* Berlin: Springer-Verlag, 1993.
- 23 朱治平. *植物物理学通讯*, 1994, 30:463.
- 24 Coen E S. *Current Opinion in Cell Biology*, 1992, 4:929.
- 25 Bowman J L et al. *Development*, 1993, 19:721.(下转第 16 页)

buchrerlag, 1971

3. 卢继传等,《生物技术》,新华出版社,1992,9
4. 曾士远 生物工程与食品工业,食品科学,1985,9
5. 孙毅 生物技术研究的新进展(上),科技信息,1995,2

花生条纹病毒外壳蛋白 基因在烟草中的表达与抗性

B. G. Cassidy 等

在印度、中国及东南亚地区,花生条纹病毒(PSV)是侵染花生及其它豆科作物的一种重要的马铃薯Y病毒组病毒。1984年在美国首次报道。目前人们正致力于应用分子生物学方法培育抗PSV的花生栽培品种。

以 *Nicotiana benthamiana* 作为 PSV 的繁殖提纯材料并按常规程序提取病毒 RNA。用逆转录酶和 DNA 聚合酶合成病毒 RNA 的互补 DNA(cDNA)。并采取几种策略以得到 PSV 的全基因组序列。

核苷酸顺序分析显示 PSV 基因组长度为 10048 个核苷酸,编码一种由 3224 个氨基酸(370kDa)组成的聚合蛋白。鉴定出两个可能的起始密码子,位于 134~136 和 146~148 部位。认为 PSV 编码的 8 种蛋白的分离位点与其它马铃薯 Y 病毒组成员的顺序有很好的一致性。对 PSV 基因产物与其它几种已知基因组全序列的马铃薯 Y 病毒组成员的同源性比较表明,大豆花叶病毒(SMV)与 PSV 的同源程度最高(38~83%)。

至今,花生的转化与再生问题尚未解决,因此,用 PSV 的另一种寄主 *N. benthamiana* 来研究其外壳蛋白介导抗性(CPMR)。以前的研究证实 3 个 PSV 外壳蛋白(CP)结构(全长,putative16, putative109)能够在大肠杆菌中合成预期的多肽产物。每一种 CP 结构都在有些植物品系体内不能合成可检测到的 CP。在所有植物材料中均未检测到源于 PSV CP-putative 109 的蛋白产物。无论表达的水平如何,我们的研究结果表明表达了 PSV CP 结构的植株症状的出现明显延迟,而且植株上部叶片有明显的恢复现象。没有发现 CP 的表达水平与抗性程度之间有任何联系。一个没有产生可检测水平 CP 的植物材料对 PSV 接种表现免疫。

对被称为“恢复叶片”的无系统症状的叶片做进一步分析,我们发现这种组织中的病毒含量极低或根本检测不到。并且出乎意料的是,在这种组织中的 CP 转基因降低或根本没有表达。对“恢复叶片”再接种,发现病毒复制水平很低,且在随后长出的叶片中没有发现。

把 PSV CP 基因导入花生(*A. hypogaea*)的工作正在取得进展。CPMR 的基本机制也正在研究之中。

张建成,董炜博 译自《Working together on groundnut virus diseases》,1995年,50页

(上接第7页)

- 26 Mandel A M et al. Nature, 1992, 360:273.
- 27 Kempin S A et al. Science, 1995, 267:522.
- 28 Lee H S et al. Nature, 1994, 367:560.
- 29 Murfett J et al. Nature, 1994, 367:563.
- 30 Mariani C et al. Nature, 1990, 347:737.
- 31 唐锡华. 植物繁殖器官分化发育的分子基础. 植物生理与分子生物学. 北京:科学出版社,1992,余叔文主编.
- 32 许智宏. 植物生理学通讯,1993, 29:317.
- 33 van Brunt J. Bio/Technology, 1992, 10:748.
- 34 Meyer P. Trends. Biotechnol, 1995, 13:332.
- 35 Kelsey D F, Brown S K. Fruit Var. J., 1992, 46:83.